第 18 卷 第 4 期　　　　昆　虫　学　报　　　　Vol. 18, No. 4
1975 年 11 月　　　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　　　November, 1975

昆虫保幼激素类似物对家蚕后部丝腺谷氨酸-丙酮酸转氨酶活性的影响

广东农林学院蚕桑系

摘要　1.多化性蚕种南农七号五龄中期喷布保幼激素类似物(734-II 号)的剂量为 0.05 微克/克幼虫体重,二化性蚕种为 0.08 微克/克幼虫体重。将使龄期延长 18—24 小时,增加茧丝量 12—24%。

2.正常情况下,五龄期后部丝腺转氨酶的活性以饷食后 72 小时为最大,以后渐次下降,熟蚕前又稍有回升。二化性蚕种的茧层量较多化性蚕种多一倍左右,同样它的转氨酶最大活性亦较多化性蚕种多 70%。

3.用 734-II 号处理后 12—24 小时内,后部丝腺的转氨酶活性较对照区明显下降,48 小时后又回升并超过对照区,以后虽渐次下降,仍明显地高于对照区,熟蚕前则又有所回升。喷布 734—II 号后使二化性蚕种的茧层量增加 10—16%,而转氨酶活性增加 10—25%。同样,多化性蚕种的茧层量增加 18-24%,而转氨酶活性增加 20—40%。可以认为 734-II 号促进转氨酶活性的提高,是增产茧丝的生理上的原因之一。

家蚕五龄中期喷布昆虫保幼激素类似物,能使龄期延长,食桑量增加,提高新陈代谢水平,从而增加茧丝产量。广东省自从 1973 年试验以来已经逐步推广。为了进一步研究昆虫保幼激素类似物对家蚕利用桑叶转化为绢丝物质的作用,本试验分析昆虫保幼激素类似物 734-II 号 [1-(对乙苯氧基)-3, 7-二甲基-6-环氧-辛烯(2)] 对五龄家蚕后部丝腺转氨酶活性的影响,从一个侧面阐明保幼激素类似物导致增丝的一些生理因素。

家蚕是单食性昆虫,桑叶蛋白及游离氨基酸中以谷氨酸、天冬氨酸及甘氨酸的含量占 55—65%,经家蚕摄食,消化吸收后,蚕血的游离氨基酸中谷氨酸、甘氨酸仍占 50% 以上。但蚕丝的丝素蛋白的氨基酸组成中,甘氨酸、丙氨酸占 60—75%,而谷氨酸、天冬氨酸则极少。这说明在家蚕后部丝腺的转氨酶作用下,利用桑叶的氨基酸与丙酮酸作用,转化为绢丝物质所需的原料,因此,本文选择家蚕后部丝腺的谷氨酸-丙酮酸转氨酶(下简称谷-丙转氨酶)作为研究保幼激素类似物增丝机制的材料。

试　验　方　法

1. 试验材料

二化性蚕种为苏 12×东 34 及其反交;多化性蚕种为南农七号(115 南×九白海)。在五龄期一半时间喷布保幼激素类似物 734-II 号。二化性蚕种的剂量为 0.08 微克/克蚕体重,多化性蚕种为 0.05 微克/克蚕体重,另设对照区。喷布保幼激素后每隔一定时间解剖取出后部丝腺,加 pH7.4 磷酸盐缓冲液制成匀浆,过滤,取清液供作谷-丙转氨酶的材料。

2. 谷-丙转氨酶活性的测定

$$\begin{array}{c}COOH\\|\\CH_2\\|\\CH_2\\|\\CHNH_2\\|\\COOH\\\text{谷氨酸}\end{array} + \begin{array}{c}COONa\\|\\C=O\\|\\CH_3\\\text{丙酮酸钠}\end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c}COONa\\|\\CHNH_2\\|\\CH_3\\\text{丙氨酸钠}\end{array} + \begin{array}{c}COOH\\|\\CH_2\\|\\CH_2\\|\\C=O\\|\\COOH\\\alpha\text{-酮戊二酸}\end{array}$$

在谷-丙转氨酶作用下，使谷氨酸与丙酮酸钠作用，形成丙氨酸钠及 α-酮戊二酸。反应完成后，残余的丙酮酸盐与二硝基苯肼作用，生成二硝基苯腙，在碱条件下呈棕色。用 72 型分光光度计 520 毫微米波长进行比色测定。丙酮酸钠的浓度在 4—20m *M*（毫克当量）范围内符合比尔定律。谷-丙转氨酶的活性以 100 毫克丝腺在 38℃±1℃ 温育 10 分钟所消耗的丙酮酸钠（毫克当量）作为酶活性计算单位。又因后部丝腺不断增大，但细胞数不变，因此亦应用每头平均后部丝腺量（毫克）的酶活性来表示，更能说明问题。

测定方法顺序：在刻度试管中加入 1 毫升 pH7.4 的 *M*/15 磷酸盐缓冲液，次加入 0.5 毫升 0.004*M* 丙酮酸钠及 0.5 毫升 0.01*M* DL-谷氨酸。混合后，加入 0.5 毫升后部丝腺匀浆抽提的酶液，在 38℃±1℃ 水浴中温育 10 分钟，加入 0.5 毫升 30%三氯乙酸及 0.5 毫升 0.005*M* 的 2,4-二硝基苯肼，最后加 0.4*N* 氢氧化钠到 10 毫升刻度，30 分钟内用 520 毫微米波长进行比色测定，对照试管则在加入酶液之前，先加入三氯乙酸。空白管则以蒸馏水代替酶液。标准丙酮酸钠比色测定时，由于酶的作用会形成一定的 α-酮戊二酸，因此应相应补充之（小出英兴等，1961；Fukuda，1957）。

试 验 结 果

1. 不同蚕种的后部丝腺谷-丙转氨酶活性变化规律

本试验观察到家蚕二化性蚕种苏 12 × 东 34 及其反交，多化性蚕种南农七号（115 南 × 九白海）等对照区五龄蚕后部丝腺谷-丙转氨酶活性变化的规律是基本相同的。以单位丝腺重量消耗的丙酮酸钠计算酶活性，则以五龄中期的活性最高，以后渐次下降，到熟蚕前一天活性最低，熟蚕当天酶活性又稍增加（见图 1、2、3）。

五龄家蚕后部丝腺的重量是不断增加的，但丝腺细胞数目基本不变。如以整个后部丝腺的谷-丙转氨酶活性作计算单位，则可从图 4 中看到其变化情况；五龄初期整个后部丝腺的转氨酶活性是比较低的，以后迅速增加，到熟蚕上簇前又降低。如南农

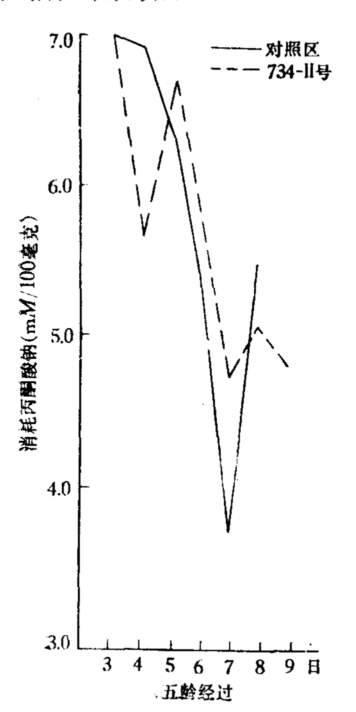


图 1 苏 12×东 34 后部丝腺转氨酶活性

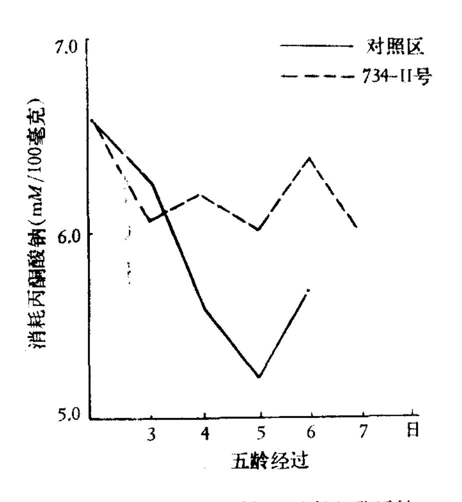


图 2 东 34×苏 12 后部丝腺转氨酶活性

七号五龄二日后部丝腺转氨酶活性为 3.18 单位，到五日熟蚕前增加到 6.74单位，活性增加 1.87 倍。同期五龄二日后部丝腺鲜重 80.5 毫克，到第四日增加到 186.1 毫克，增加 2.3 倍，可以认为后部丝腺中谷-丙转氨酶活性的增加，是大量合成绢丝物质的基础。

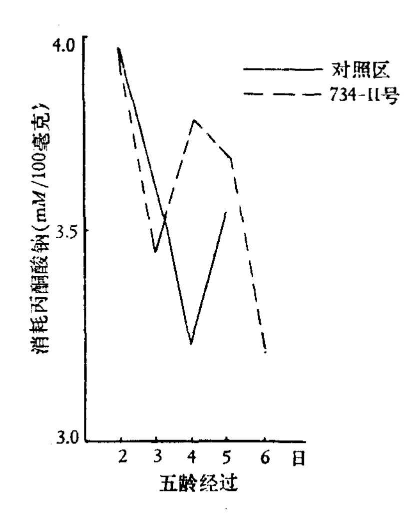


图 3　南农七号后部丝腺转氨酶活性

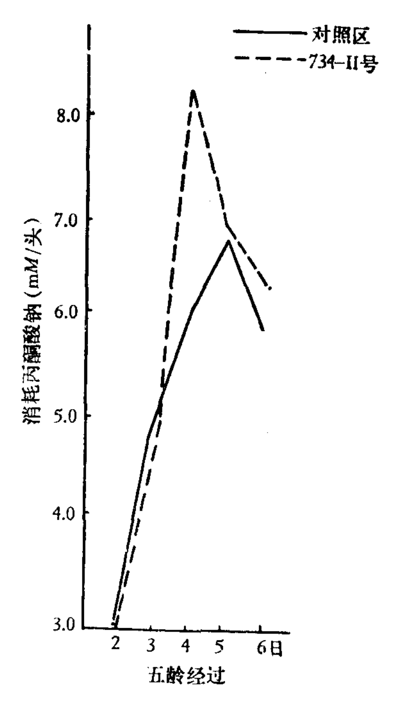


图 4　南农七号后部丝腺转氨酶活性

二化性蚕种后部丝腺的谷-丙转氨酶活性最高为 6.262—7.040 单位，较多化性蚕种 3.83—3.94 单位，约增加 70%以上。同样，二化性蚕种平均茧层量为 350—370 毫克/头，较多化性蚕种南农七号茧层量 175—180 毫克/头，约增加一倍左右。可以认为后部丝腺谷-丙转氨酶活性的高低与蚕的产丝量多少是相适应的。

从以上几个方面可以初步认为，本试验测定后部丝腺谷-丙转氨酶活性的方法是可行的。同时，可以看到后部丝腺谷-丙转氨酶活性的变化情况与绢丝物质的合成有密切关系。

2. 保幼激素类似物 734-II 号对家蚕后部丝腺谷-丙转氨酶活性的影响

家蚕五龄中期喷布适量的保幼激素类似物 734-II 号，能增加茧丝量，据 1973 年的调查表明，喷激素后 24—36 小时内，蚕体重、丝腺重量的增加量以及食桑量等均较对照区为小；但 48 小时后则迅速增加，并超过对照区的最大值。本试验观察到喷布 734-II 号后 12—24 小时内，后部丝腺谷-丙转氨酶的活性均有较明显的下降(见图 1、2、3)。酶活性下降的比率约为 6—20%。喷布 48 小时后，酶活性又复增加，并超过对照区；以后保持这一趋势而渐次下降，到熟前为最低，上簇后又复增加。在这段期间内，后部丝腺谷-丙转氨酶活性较对照区增加 5—40%。

如按整个后部丝腺的鲜重计算酶活性时，南农七号五龄二日为 3.17 单位，喷 734-II 号后 12—24 小时内为 4.77单位，较同期对照区的 5.36 单位，减少了 11%；同期五龄三日激素区蚕儿后部丝腺鲜重 137.7 毫克/头，较对照区 147.2 毫克/头，减少了 6.7%。五龄四日激素区蚕儿后部丝腺谷-丙转氨酶活性增到 8.39 单位，较对照区 5.94 单位增加了 41.3%。同期激素区蚕儿后部丝腺鲜重 219.4 毫克/头，较对照区 186.1 毫克/头增加 1.18

倍。以上可以看到保幼激素类似物处理后对家蚕后部丝腺谷-丙转氨酶活性有明显的影响,酶活性的增减,与绢丝物的合成有明显的关系。

二化性蚕种苏 12 × 东 34 喷施734-II号后，茧层量较对照区约增加 10—16%，而五龄期后部丝腺谷-丙转氨酶的最大活性较对照区增加 10—25%；多化性蚕种南农七号喷施 734-II 号后,茧层量较对照区增加 18—24%,而五龄期后部丝腺谷-丙转氨酶的最大活性较对照区增加 20—40%。同样可以看到由保幼激素类似物的影响致使转氨酶活性的增加与茧层量的增加是相适应的。

以上材料可以初步认为：五龄家蚕喷布保幼激素类似物 734-II号，能增加后部丝腺谷-丙转氨酶的活性，即加速绢丝物的原料-丙氨酸的形成，为增加绢丝物的合成提供原料。

参 考 资 料

小出英兴、奥　原章、渡边喜久子、志村宪助　1961　アシノ基转移反应によるグリシンの合成ついて。日本农芸化学会志 **35**(8) 758—61。

Fukuda, T. 1957 Biochemical studies on the formation of the silk-protein. IV, The conversion of pyruvic acid to alanine in the silkworm larva. *J. Biochemistry* **44** (8)505—10.